

MÉCANISMES ÉVOLUTIFS DE LA BIODIVERSITÉ DE LA BACTÉRIE PHYTOPATHOGÈNE *RALSTONIA SOLANACEARUM*

>> Restitution appel à projets BRG 2007-2008

Philippe Prior, CIRAD-Systèmes Biologiques UMR C53

Peuplement Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical.

Le projet s'attachait à comprendre les mécanismes évolutifs moteurs de biodiversité dans le pathosystème complexe *R. solanacearum*. Afin d'évaluer le rôle des transferts horizontaux de gènes dans l'évolution des ressources génétiques chez *R. solanacearum*, la fréquence des transferts ainsi que la taille et la nature de l'information génétique échangée par transformation *in vitro* mais également *in planta* entre différents phylotypes de cette bactérie ont été étudiées. De même, nous proposons d'évaluer les facteurs physiologiques et génétiques de la bactérie et de la plante qui pourraient influencer ce brassage génétique au sein des populations de *R. solanacearum*. Cette problématique a été abordée par les étapes suivantes : (1) La reconnaissance et description de situations épidémiologiques modèles où la co-infection de différents phylotypes est observée à l'état naturel, au champ, dans différentes combinaisons souches de *R. solanacearum* x fond génétiques hôtes impliqués x évolution de l'infection (latence ou flétrissement). (2) La détermination de la compétence pour la transformation naturelle dans les différents phylotypes et l'évaluation de la divergence génomique entre phylotypes ont constitué les premières étapes de validation de notre modèle d'étude. (3) La taille, la nature et la fonction de l'information génétique transmise entre phylotypes ont été déterminées par hybridation génomique comparative sur « puces à ADN ». (4) L'influence de la plante hôte sur les brassages génétiques a été évalué par inoculation du pathogène à une collection de plantes sensible ou résistantes à *R. solanacearum*. (5) Enfin, l'impact de ces transferts horizontaux de gènes (TGH) sur l'évolution de la biodiversité chez *R. solanacearum* et sur l'émergence de nouvelles souches pathogènes a été évalué *in planta* dans des fonds génétiques résistants *ad hoc* afin d'estimer le risque de contournement de la résistance causé par les TGH.

Conclusions

Les données bibliographiques et nos travaux soutenus par le BRG ont démontré que *R. solanacearum* peut être considéré comme un agent pathogène en évolution rapide pouvant aboutir à l'émergence de nouveaux pathotypes et l'élargissement de sa gamme d'hôtes. En effet, parallèlement aux processus d'évolutions qui ont contribué à la création des différents clades constituant le complexe d'espèces *R. solanacearum*, l'aptitude ubiquitaire à transformer naturellement (capter et intégrer de l'ADN exogène) chez ces clades (Coupat *et al.*, 2008) laisse supposer que ce processus de transferts horizontaux de gènes (THG) pourrait être considéré comme l'un des mécanismes moteurs de l'évolution de ce pathogène. La taille et la nature de l'information génétique échangée entre différents clades, déterminées grâce à l'hybridation des génomes de transformant sur la puce méta-génomique, ont démontré des acquisitions de régions d'ADN de plus de 30 kb. De plus, le transfert de gènes codant pour des effecteurs de type III et impliqué dans la virulence a été établi ainsi que son impact sur la pathogénie de la souche réceptrice. En effet, l'augmentation de la virulence et de l'agressivité du transformant Psi07 RSc2124 en comparaison à la souche type Psi07 peut être attribuée à l'acquisition de 30 kb d'ADN comportant trois effecteurs de type III. Enfin, la capacité de *R. solanacearum* à échanger de l'information génétique dans des conditions *in planta* n'a pu être démontré, car les stratégies expérimentales ne seraient pas suffisamment sélectives pour la détection des événements de transfert de gènes que l'on estime très rare dans les conditions naturelles.

Valorisation scientifique

Publications scientifiques avec comité de lecture

- Coupat, B., Chaumeille-Dole F., Fall S. Prior P., Simonet P., Nesme X. and F. Bertolla. 2008. Natural transformation in the *Ralstonia solanacearum* species complex: number and size of DNA that can be transferred. *FEMS Microbiol Ecol* 66 : 14-24 (IF 3,6).
- Coupat-Goutaland, B., D. Bernillon, A. Guidot, P. Prior, X. Nesme, and F. Bertolla. 2011. *Ralstonia solanacearum* virulence increased following large inter-strain gene transfers by natural transformation. *Molecular Plant Microbe Interactions* 24 (4):497-505 (IF 4,2).
- Guidot, A., B. Coupat, S. Fall, P. Prior, and F. Bertolla. 2009. Horizontal gene transfer between *Ralstonia solanacearum* strains detected by comparative genomic hybridization on microarrays. *ISME Journal* 3 (5):549-562 (5,03)

Participation à des congrès

- **Coupat B.**, A. Guidot, S. Fall, P. Prior, X. Nesme et F. Bertolla. Transformation naturelle dans le complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum* : détection d'événements de transferts multiples d'ADN et d'ADN de grande taille. 8^{ème} Rencontres plantes-Bactéries. 14- 18 janvier 2008. Aussois, France. (Communication orale).

- **Coupat-Goutaland B.**, A. Guidot, D. Bernillon, P. Prior, X. Nesme and F. Bertolla. Increasing aggressiveness of the phytopathogenic bacteria *Ralstonia solanacearum* by gene transfer. International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. June, 7-11 2010. Île de La Réunion, France. (Communication orale).
- Guidot A., B. Coupat, S. Fall, P. Prior, et F. Bertolla. Transferts horizontaux de gènes entre souches de *Ralstonia solanacearum* détectés par hybridation génomique comparative sur puces à ADN. 8^{ème} Rencontres plantes-Bactéries. 14- 18 janvier 2008. Aussois, France (Posters).
- Coupat B., A. Guidot, P. Prior, X. Nesme et F. Bertolla. Emergence de nouveaux pathotypes chez *Ralstonia solanacearum* : rôle des transferts horizontaux de gènes. 7^{ème} colloque national de la SFP. 8-11 juin 2009. Lyon, France (Posters).
- Coupat B., A. guidot, P. Prior, X. nesme and F. bertolla. involvement of horizontal gene transfer in the emergence of new pathotypes of *Ralstonia solanacearum*. XIV international Congress on MPMI. 9 au 23 juillet 2009. Quebec, Canada (Posters).
- Coupat-Goutaland B., A. Guidot, P. Prior, X. Nesme et F. Bertolla. Emergence de nouveaux pathotypes chez la bactérie phytopathogène *Ralstonia solanacearum* : rôle des transferts de gènes. 9^{ème} Rencontres plantes-Bactéries. 18- 22 janvier 2010. Aussois, France.
- Coupat-Goutaland B., Bernillon D., Guidot A., Prior P., Nesme X., Bertolla F. *Ralstonia Solanacearum* Virulence Increased Following Large Inter-Strain Gene Transfers By Natural Transformation. 11th Symposium On Bacterial Genetics And Ecology. 29 Mai-2 Juin 2011, Corfou, Grèce.

DYNAMIQUE ET STRUCTURATION DES DIVERSITÉS AMÉLIORÉE ET SPONTANÉE D'UNE GRAMINÉE FOURRAGÈRE À L'ÉCHELLE DE LA PARCELLE ET DU PAYSAGE AGRICOLE

>> Restitution appel à projets BRG 2007-2008

Jean-Paul Sampoux

INRA, Centre INRA Poitou-Charentes

Les graminées fourragères constituent un bon modèle pour étudier la dynamique et la structuration des diversités améliorée et spontanée à l'échelle de la parcelle et du paysage agricoles. Dans les unités paysagères à forte activité d'agriculture-élevage, une partie des surfaces en prairies est en effet semée avec des variétés issues de la création variétale moderne. Il peut s'agir de surfaces installées en prairies de façon définitive ou sur lesquelles alternent des cultures annuelles et des prairies temporaires exploitées pendant quelques années. Par ailleurs, des surfaces plus ou moins importantes, peu propices au travail du sol, sont maintenues en prairies permanentes et abritent la diversité spontanée des graminées fourragères. La durée d'exploitation des prairies semées sur plusieurs années offre un champ temporel conséquent pour l'action des pressions de sélection environnementales et le déploiement de flux de gènes. Chez les graminées, allogames et anémophiles, des flux de gènes par voie pollinique sont attendus sur des distances de l'ordre de grandeur des dimensions d'un paysage agricole. Des flux de graines sont également possibles par diverses voies (transport de fourrage entre parcelles, anémochorie et zoochorie). Enfin, la capacité de reproduction clonale des graminées par tallage offre une troisième voie de flux de gènes à courte distance. Les variations des pressions de sélection environnementales sur de courtes distances et la portée limitée des flux de gènes peuvent ainsi conduire à la mise en place d'une structuration spatiale de la diversité à une échelle infra-parcellaire dans les prairies permanentes, mais aussi dans les prairies semées depuis plusieurs années.

Nous avons développé un projet dont le but était de contribuer à la connaissance de la dynamique et de la structuration, à l'échelle du paysage agricole, des diversités améliorée et spontanée d'une graminée fourragère, le ray-grass anglais. Ce projet visait à répondre aux questions suivantes :

- Dans quelle mesure la diversité améliorée, semée pour l'établissement de nouvelles prairies, évolue t'elle, en moyenne et en variance, sous l'effet des pressions de sélection locale ? Peut-elle ainsi acquérir une certaine valeur écotypique ?
- Existe-t-il une structuration spatiale de la diversité à l'échelle infra-parcellaire dans le cas de la diversité semée et dans celui de la diversité spontanée ? Quelles sont les contributions des variations de pression de sélection environnementale et de la portée des flux de gènes à ces structures spatiales ?
- Peut-on mettre en évidence des flux de gènes par voie pollinique et par voie de graines entre diversité semée et diversité spontanée ?

Le paysage d'étude choisi, d'environ un demi-kilomètre carré, se composait d'une mosaïque de parcelles avec environ 35% de la surface en prairies temporaires semées, 55% en prairies permanentes, et 10% en cultures annuelles.